# Untersuchungen über das Vorkommen von Reoviren bei Rindern in Süddeutschland

Germán Reinhardt

1972

Aus dem Institut für Mikrobiologie und
Infektionskrankheiten der Tiere
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: Professor Dr. A. Mayr

---

# UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VORKOMMEN VON REOVIREN BEI RINDERN IN SÜDDEUTSCHLAND

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Germán Reinhardt

aus

Santiago de Chile / CHILE

München 1972

Gedruckt mit Unterstützung des Deutschen Akademischen
Austauschdienstes

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan : Prof. Dr. J. Boessneck
Referent : Prof. Dr. A. Mayr
Korreferent: Prof. Dr. H. Kraft

Tag der Promotion: 11.2.1972

INHALTSVERZEICHNIS


| | Seite |
|---|---|
| 1. EINLEITUNG | 1 |
| 2. SCHRIFTTUM | 2 |
| 2.1 Einführung | 2 |
| 2.2 Epidemiologie der Reoviren | 3 |
| 2.2.1 Vorkommen und Verbreitung | 3 |
| 2.2.2 Virusausscheidung | 8 |
| 2.2.3 Virusübertragung | 9 |
| 2.2.4 Virusaufnahme | 9 |
| 2.2.5 Infektketten | 10 |
| 2.2.6 Erregerreservoire | 11 |
| 2.2.7 Serotypenprobleme | 12 |
| 2.3 Reoviren beim Rind | 14 |
| 2.3.1 Erstmalige Isolierung | 14 |
| 2.3.2 Vorkommen und Verbreitung | 14 |
| 2.3.3 Beziehungen zwischen Infektion und Krankheit | 15 |
| 2.3.3.1 Natürliche Infektion | 15 |
| 2.3.3.2 Experimentelle Infektion | 16 |
| 2.3.4 Bekämpfung | 17 |
| 3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN | 17 |
| 3.1 Material und Methoden | 17 |
| 3.1.1 Zellkulturen | 17 |
| 3.1.2 Virusstämme | 18 |
| 3.1.3 Herstellung der Antigene | 18 |
| 3.1.4 Zahl, Alter und Herkunft der untersuchten Tiere | 19 |
| 3.1.5 Hämagglutinationstest | 20 |
| 3.1.6 Hämagglutinationshemmungstest | 20 |

Seite

3.2 Versuche und Ergebnisse 21

3.2.1 Untersuchungen über das Vorkommen hämagglutinationshemmender Antikörper gegenüber Reoviren der Serotypen 1, 2 und 3 in Kälber- und Rinderseren 21

3.2.2 Beziehungen zwischen dem Alter der untersuchten Tiere, der Häufigkeit des Antikörpernachweises und dem durchschnittlichen Serumantikörpertiter 24

4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE 29

5. ZUSAMMENFASSUNG 35

6. LITERATURVERZEICHNIS 37

7. LEBENSLAUF

## 1. EINLEITUNG

In den letzten beiden Jahrzehnten hat die Rinderhaltung einen grundsätzlichen Strukturwandel erfahren.
Bei der in zunehmenden Maß angestrebten "Intensiv"- oder Massentierhaltung steht einer größtmöglichen Rationalisierung und gesteigerten Rentabilität die besondere Gefährdung der Tiere durch Infektionserreger und ihre erhöhte Anfälligkeit für sogenannte "Faktorenerkrankungen" gegenüber (MAYR und ROJAHN, 1968).

Die Erreger faktorenbedingter Viruserkrankungen der Kälber und Rinder sind nicht nur auf eine bestimmte Virusgruppe beschränkt. Die lange gehegte Hoffnung, mit der Bekämpfung des in unserer Rinderpopulation weitverbreitete Parainfluenza-3-Virus einen durchschlagenden Erfolg bei der Sanierung von sogenannten "Problembeständen" erzielen zu können, hat sich nicht erfüllt.

Auf Grund neuerer Forschungsergebnisse aus dem In- und Ausland weiß man, daß anderen Virusarten, z.B. Rhinoviren, Adenoviren und Reoviren, eine mindestens ebenso große Bedeutung wie dem Parainfluenza-3-Virus zukommt. Kompliziert wird die Situation durch die Vielzahl von immunologisch unterschiedlichen Serotypen und das Vorkommen von Mischinfektionen.
Innerhalb der beim Rind vorkommenden Virusarten nehmen Reoviren eine besondere Stellung ein. Die bei Rindern, vielen anderen Tierarten und beim Menschen bekannten Serotypen 1, 2 und 3 lassen keinerlei Wirtsspezifität erkennen und gewinnen dadurch als mögliche Erreger von Zoonosen eine außerordentliche Bedeutung.
Angeregt durch Berichte aus dem In- und Ausland über Reovirusinfektionen und ihre Mitbeteiligung bei Erkrankungen von Kälbern und Jungrindern erschien es wünschenswert, Vorkommen und Verbreitung von Reoviren in unserer Rinderpopulation näher zu untersuchen. Dies war der Zweck vorliegender Arbeit.

## 2. SCHRIFTTUM

### 2.1 Einführung

Der Name "Reovirus" (Respiratory Enteric Orphan Virus) wurde 1959 von SABIN für eine Reihe von Virusstämmen geprägt, die ursprünglich den ECHO-Viren (Enteric Cytopathogenic Human Orphan-Viren) zugeordnet worden waren. Diese neue Gruppierung wurde notwendig, nachdem sich herausstellte, daß sich eben diese Virusstämme in ihren chemisch-physikalischen und biologischen Eigenschaften von den ECHO-Viren grundlegend unterscheiden (ROSEN, 1964). Die Bezeichnung Reovirus soll zum Ausdruck bringen, daß sie sowohl im Respirationstrakt als auch im Verdauungsapparat vorkommen.

Das erste Agens der Reovirusgruppe wurde 1951 in Australien aus den Fäzes eines an Bronchopneumonie erkrankten Kindes isoliert. Experimentell mit diesem Virus infizierte Mäuse erkrankten unter Symptomen des sogenannten "oily hair effect", sowie einer Hepatitis und Enzephalitis. STANLEY, DORMAN und PONSFORD (1953) nannten dieses Virus deshalb "Hepato-Enzephalomyelitis-Virus". Erst später wurde es als Reovirus, Serotyp 3, charakterisiert (STANLEY, 1961). Bei Menschen, verschiedenen Säugetierarten, Fischen und Insekten sind bis heute 3 serologisch und immunologisch unterschiedliche Serotypen bekannt. Die entsprechenden, bei diesen Spezies vorkommenden Serotypen sind identisch (ROSEN, 1960).

Dazu kommen die Reoviren der Vögel (KAWAMURA, SHIMIZU, MAEDA und TSUBAHARA, 1965; FUJIZAKI, KAWAMURA und ANDERSON, 1969) (mindestens 5 Serotypen), ein aus Forellen isoliertes Reovirus (MOSS und GRAVELL, 1969) sowie bei Pflanzen das Woundtumor-Virus und das Rice Dwarf Virus (BILS und HALL, 1962; STREISSLE und MARAMOROSCH, 1963).

Reoviren sind aus den Fäzes sowie aus Spül-, Tupfer- und Organproben des Verdauungs- und Respirationsapparates klinisch gesunder und kranker Menschen und Tiere isoliert worden (ROSEN, 1964).

## 2.2 Epidemiologie der Reoviren

### 2.2.1 Vorkommen und Verbreitung

Reoviren kommen beim Menschen, einer Vielzahl verschiedener Säugetierarten, bei Vögeln, Fischen, Insekten und Pflanzen vor (Tabelle 1). Neben diesem außergewöhnlich großen Wirtsspektrum fällt ihre weltweite Verbreitung und das häufige Vorkommen innerhalb der Spezies auf.

Beim Menschen unterscheidet man die Reovirus-Serotypen 1, 2 und 3 (ROSEN, 1960). Ihre weite Verbreitung wurde durch serologische Untersuchungen wiederholt nachgewiesen. SCHMIDT, TAUCHNITZ und KUHN (1965) untersuchten in der DDR 406 Humanseren und fanden bei 48,8 % der Patienten hämagglutinationshemmende Antikörper gegenüber dem Serotyp 1 und bei 87,9 % Antikörper gegenüber dem Serotyp 2 der Reoviren. Bei der Untersuchung von 66 Humanserum-Pools stellten STANLEY, LEAK, GRIEVE und PERRET (1964) fest, daß der Reovirus-Serotyp 1 am häufigsten vertreten war (79 - 92 % der Pools positiv, je nach Altersgruppe), seltener die Serotypen 2 (47 - 55 % positiv) und 3 (36 - 57 % positiv). 156 Einzelseren von Kindern im Alter von bis zu 15 Jahren, wieder nach verschiedenen Altersgruppen aufgeteilt, enthielten zu 12 - 48 % Antikörper gegenüber dem Serotyp 1, zu 15 - 26 % Antikörper gegenüber dem Serotyp 2 und zu 13 - 21 % Antikörper gegenüber dem Serotyp 3 der Reoviren.

Die Reovirus-Serotypen 1, 2 und 3 wurden außerdem bei vielen Tierarten nachgewiesen.

Bei Affen wurden bis jetzt nur die Serotypen 1 und 2 isoliert (ROSEN, 1960; SABIN, 1960). Der wiederholte Nachweis von Reovirus-Serotyp 1 in primären Affennieren-Zellkulturen läßt auf eine weite Verbreitung des Virus schließen (HULL und MINNER, 1957; HULL, MINNER und MASCOLI, 1958). Experimentell lassen sich Affen mit allen 3 Serotypen infizieren (HULL, MINNER und SMITH, 1956; STANLEY, DORMAN und PANSFORD, 1954; HULL, MINNER und MASCOLI, 1958; LOU und WENNER, 1963).

Bei Pferden ließen sich ebenfalls Antikörper gegenüber den Serotypen 1, 2 und 3 nachweisen (STANLEY und LEAK, 1963).

Bei Rindern kommen alle 3 Serotypen vor (ROSEN und ABINANTI, 1960; ROSEN, ABINANTI und HOVIS, 1963b; ABINANTI, 1963). Nähere Angaben finden sich im Kapitel 2.3.

Bei Schafen und Ziegen gelang der Nachweis von Antikörpern gegenüber allen 3 Serotypen (STANLEY, LEAK, GRIEVE und PERRET, 1964). Zu dem von McFERRAN, NELSON,McCRACKEN und ROSS (1969) aus den Fäzes isolierten Reovirus liegen Angaben über eine Typisierung nicht vor.

Vom Schwein wurde bis jetzt nur der Serotyp 1 isoliert (McFERRAN und CONNOR, 1970; KASZA, 1970). Serologische Untersuchungen bestätigten aber auch das Vorkommen der Serotypen 2 und 3.

SPRADBROW (1968) fand bei der Untersuchung von 200 Schweineseren hämagglutinationshemmende Antikörper gegenüber Reoviren. Serotyp-1-Antikörper waren bei 20,5 %, Serotyp-2-Antikörper bei 25,5 % und Serotyp-3-Antikörper bei 61,5 % der Tiere vorhanden. 40,5 % der Schweine besaßen Antikörper gegen nur 1 Serotyp, während sich bei 23,5 % Antikörper gegen 2 und bei 7 % Antikörper gegen alle 3 Serotypen nachweisen ließen.
HARKNESS, CHAPMAN und DARBYSHIRE (1971) untersuchten 2253 Schweineseren auf ihren Gehalt an hämagglutinationshemmenden Antikörpern gegenüber dem Reovirus-Serotyp 1 und 2152 Schweineseren auf Antikörper gegenüber dem Serotyp 2. In 37,5 % der Seren bzw. 57,8 % der Herkunftsbestände ließen sich Antikörper gegen den Serotyp 1 und in 31,3 % der Seren bzw. 57,5 % der Bestände Antikörper gegen den Serotyp 2 nachweisen.
Zu ähnlichen Ergebnissen kam WUNDERLICH (1972). Bei der Untersuchung von 500 Schweineseren fand er 239 Tiere (47,8 %) mit Antikörpern gegenüber dem Reovirus-Serotyp 1. Gegen den Serotyp 2 gerichtete Antikörper hatten 194 Tiere (38,8 %) und Serotyp-3-Antikörper 340 Tiere (68,0 %).

Hunde: Isoliert wurde bis jetzt lediglich der Reovirus-Serotyp 1 (LOU und WENNER, 1963; MASSIE und SHAW, 1966), das Vorkommen

der Serotypen 2 und 3 wurde durch serologische Untersuchungen bestätigt. FAIRCHILD und COHEN (1967) fanden bei 90 von 112 Hunden hämagglutinationshemmende Antikörper gegen Reoviren. 59 % der Tiere hatten Serotyp-1-, 53 % Serotyp-2- und 58 % Serotyp-3-Antikörper. LOU und WENNER (1963) wiesen bei 43 (34 %) von 126 Hunden neutralisierende Antikörper gegen den Reovirus-Serotyp 1 nach.

Bei Katzen gelang die Isolierung eines Reovirus des Serotyps 3 (SCOTT, KAHN und GILLESPIE, 1970).

Meerschweinchen und Hamster hatten zwar hämagglutinationshemmende, aber ebenfalls keine neutralisierenden Antikörper gegen alle 3 Reovirus-Serotypen (SCHMIDT, LENNETTE und HANAHOE,1966).

Bei Ratten sind hämagglutinationshemmende, aber keine neutralisierenden Antikörper gegenüber Reovirus-Serotyp 3 nachgewiesen worden (SCHMIDT, LENNETTE und HANAHOE, 1966).

Mäuse gelten als sehr empfänglich für Reoviren und werden deshalb zur Züchtung von Reoviren herangezogen. Gegenüber Zellkulturen ist aber von Nachteil, daß manche Mäusekolonien natürlich mit Reoviren infiziert sind. Der Reovirus-Serotyp 3 ist wiederholt aus Laboratoriumsmäusen isoliert worden (NELSON und COLLINS, 1961; HARTLEY, ROWE und HUEBNER, 1961; ROSEN, 1962; COOK, 1963), das Vorkommen von Reovirus-Serotyp 2 wurde durch serologische Untersuchungen nachgewiesen (HARTLEY, ROWE und HUEBNER, 1961). Bei Feldmäusen sind bis jetzt nur Serotyp 2-Infektionen durch serologische Untersuchungen und Virusisolierung festgestellt worden (HARTLEY, ROWE und HUEBNER, 1961).

Känguruhs: Von Kurzschwanzkänguruhs (setonix brachyurus) wurde ein Reovirus von Serotyp 3 isoliert (STANLEY, LEAK, GRIEVE und PERRET, 1964). Darüber hinaus wies man bei diesen Beuteltieren und bei anderen Känguruhs (Protemnoden eugenii) Antikörper gegen alle 3 Reovirus-Serotypen nach (STANLEY und LEAK, 1963).

Fledermäuse: STANLEY, LEAK, GRIEVE und PERRET (1964) untersuchten 3 Serumpools von insgesamt 80 Fledermäusen. Alle 3 Pools

enthielten hämagglutinationshemmende Antikörper gegenüber Reovirus-Serotyp 3, aber keine Serotyp-1- oder -2-Antikörper.

Moskitos: Aus Moskitos sind schon mehrmals Reoviren des Serotyps 3 isoliert worden (MILES, AUSTIN, MCNAMARA und MAGWIRE, 1965; PARKER, BAKER und STANLEY, 1965). In künstlichen infizierten Moskitos scheint aber keine aktive Vermehrung der Reoviren stattzufinden (MILES, AUSTIN, MCNAMARA und MAGWIRE, 1965; SIMPSON, HADDOW, WOODALL, WILLIAMS und BELL, 1965; ROSEN, 1968).

Fische: STANLEY, LEAK, GRIEVE und PERRET (1964) fanden in 7 von 9 Forellenseren zwar hämagglutinationshemmende, aber keine virusneutralisierenden Antikörper gegenüber Reovirus-Serotyp 3. Bei Fischen kennt man außerdem das Infectous Pancreatic Necrosis-Virus, welches Eigenschaften der Reovirusgruppe aufweist (MOSS und GRAVELL, 1969).

Vögel. Bei Hühnern und wildlebenden Vögeln sind Antikörper gegen den Reovirus-Serotyp 3 gefunden worden (STANLEY und LEAK, 1963; MILES, AUSTIN, MACNAMARA und MAGWIRE, 1965). Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß sich der Reovirus-Serotyp 3 auch im bebrüteten Hühnerei vermehrt (STANLEY, DORMAN und PONSFORD, 1953).
Beim Geflügel sind außerdem noch 5 weitere Reovirus-Serotypen bekannt, die sich von den beim Menschen und Tieren vorkommenden Reovirus-Serotypen 1, 2 und 3 serologisch unterscheiden (KAWAMURA, SHIMIZU, MAEDA und TSUBAHARA, 1965; FUJIZAKI, KAWAMURA und ANDERSON, 1969).

STANLEY (1967) berichtet außerdem noch über das Vorkommen von hämagglutinationshemmenden Reovirus-Antikörpern bei Kamelen, Kaninchen, Hasen und Reptilien, macht aber keine Angaben über die Antikörper-Serotypen.

Pflanzen. Bei Pflanzen sind die beiden Reoviren "Woundtumorvirus" und "Rice Dwarf-Virus" bekannt. Beide Virusarten vermehren sich auch in Insekten und werden von diesen auf Pflanzen, außerdem transovariell auf ihre Nachkommenschaft übertragen (STANLEY, 1967).

Tabelle 1: Vorkommen von Reoviren bei Mensch und Tieren

| Spezies | Reovirusserotyp 1 | 2 | 3 | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| Mensch | + | + | + | |
| Affe | + | + | | |
| Pferd | X | X | X | |
| Rind | + | + | + | |
| Schaf | X | X | X | + n.t. |
| Ziege | X | X | X | |
| Schwein | + | X | X | |
| Hund | + | X | X | |
| Katze | | | + | |
| Meerschweinchen | X | X | X | |
| Hamster | X | X | X | |
| Ratte | | | X | |
| Maus | | X | + | |
| Känguruh | X | X | + | |
| Fledermaus | | | X | |
| Moskito | | | + | |
| Fisch | | | X | + Infectious Pancreatic Necrosis-Virus |
| Vögel | | | X | |
| Geflügel | | | X | + 5 Serotypen |
| Kamel<br>Kaninchen<br>Hase<br>Reptilien | X n.t. | | | |

\+ = Virusisolierung
X = serologischer Nachweis
n.t.= nicht typisiert

2.2.2 Virusausscheidung

Infizierte Individuen scheiden Reoviren über den Verdauungs- und Atmungsapparat aus (ROSEN und ABINANTI, 1960; ROSEN, ABINANTI und HOVIS, 1963; TRAINOR, MOHANTY und HETRICK, 1966; LAMONT, DARBYSHIRE, DAWSON, OMAR und JENNINGS, 1968). Die Virusausscheidung mit den Fäzes dauert in der Regel länger an. So war nach experimenteller intranasaler Infektion von 27 Freiwilligen in allen Fällen eine Reisolierung des Virus aus den Fäzes möglich. Die nachweisbare Dauer der Ausscheidung betrug dabei 2-13 Tage. Dagegen gelang eine Reisolierung aus dem Pharynx nur bei 2 Versuchpersonen zwischen dem 5. und 8. Tag nach der Infektion (ROSEN, EVANS und SPICKARD, 1963). Bei Kälbern ist das Virus in den Fäzes, dem Nasensekret und der Konjunktivalflüssigkeit nachzuweisen (ROSEN und ABINANTI, 1960; TRAINOR MOHANTY und HETRICK, 1966; LAMONT, DARBYSHIRE, DAWSON, OMAR und JENNINGS, 1968). Nach experimenteller Infektion werden Reoviren mit den Fäzes auf die Dauer von 8 Tagen (TRAINOR, MOHANTY und HETRICK, 1966) bzw. 14 Tagen (LAMONT, DARBYSHIRE, DAWSON, OMAR und JENNINGS, 1968) ausgeschieden. Mehrmalige Isolierung innerhalb größerer Zeiträume infolge Reinfektion können eine längere Ausscheidungsdauer vortäuschen (ROSEN, ABINANTI und HOVIS, 1963).
TRAINOR, MOHANTY und HETRICK (1966) und LAMONT, DARBYSHIRE, DAWSON, OMAR und JENNINGS (1968) konnten Reoviren aus dem Nasenschleim von experimentell intranasal und intratracheal infizierten Kälbern bis zum 6. bzw. 7. Tag nach der Infektion isolieren.
Schweine scheiden Reoviren nach natürlicher und experimenteller Infektion über den Verdauungs- und Atmungsapparat aus. Die Ausscheidungsdauer beträgt mindestens 14 Tage (KASZA, 1970; McFERRAN und CONNOR, 1970; McFERRAN, BASKERVILLE und CONNOR, 1971; BASKERVILLE, McFERRAN und CONNOR, 1971).
Auch bei Hunden können Reoviren sowohl aus Fäzes als auch aus Nasenschleim isoliert werden. Nach intravenöser oder intranasaler Infektion wird das Virus mit Nasensekret 4 Tage lang ausgeschieden (MASSIE und SHAW, 1966; THOMPSON, WRIGHT und CORNWELL, 1970).

Bei Katzen können Reoviren aus Nasen-, Konjunktival- und Rektumtupferproben isoliert werden. SCOTT, KAHN und GILLESPIE (1970) gelang die Reisolierung von Reovirus Serotyp 3 nach kombinierter intravenöser und oraler Infektion aus dem Pharynx am 6. und 21. Tag, aus Nasenschleim am 3., 10. und 21. Tag, aus Konjunktivaltupferproben am 14. und 21. Tag und aus dem Rektum am 3., 6. und 10. Tag nach der Infektion.

### 2.2.3 Virusübertragung

Reoviren werden durch direkten Kontakt übertragen. Der Nachweis dafür erfolgte durch serologische Untersuchungen und erfolgreiche Virusisolierungsversuche bei Kälbern, Schweinen, Hunden und Katzen, welche mit experimentell infizierten Artgenossen in Kontakt gehalten worden waren. (ROSEN und ABINANTI, 1960; KASZA, 1970; SCOTT, KAHN und GILLESPIE, 1970; THOMPSON, WRIGHT und CORNWELL, 1970; McFERRAN, BASKERVILLE und CONNOR, 1971).
Daneben wird eine Übertragung durch belebte Vektoren diskutiert. Hinweise dafür liefern Isolierungen von Reoviren aus Moskitos und die nachgewiesene Übertragung des Wound Tumor Virus und des Rice Dwarf Virus, zweier Pflanzenvirusarten, welche zu der Gruppe der Reoviren gehören, durch Insekten (MILES, AUSTIN, MCNAMARA und MAGWIRE, 1965; PARKER, BAKER und STANLEY, 1965; GOMATOS und TAMM, 1963a; 1963b; LANGRIDGE und GOMATOS, 1963; BILS und HALL, 1962; VASQUEZ und TOURNIER, 1962; STREISSLE und MARAMOROSCH, 1963; STANLEY, LEAK, GRIEVE und PERRET, 1964).
Reoviren sind gegenüber äußeren Einflüssen sehr resistent (Lit. bei ROSEN, 1968). Die Möglichkeit einer Übertragung dieser Viren durch unbelebte Vektoren muß deshalb mit in Betracht gezogen werden.

### 2.2.4 Virusaufnahme

Aus experimentellen Untersuchungen ist bekannt, daß sich sowohl der Mensch als auch Affen, Rind, Schwein, Kaninchen, Meerschweinchen, Hamster und Frettchen durch intranasale Inokula-

tion mit Reovirus infizieren lassen. Bei Rindern und Hunden ist auch eine intratracheale Infektion möglich. Außerdem sind Hunde kombiniert intranasal/intravenös und Katzen oral/intravenös infiziert worden. Die starke Affinität der Reoviren zu den Schleimhäuten des Verdauungsapparates läßt vermuten, daß bei allen Tierarten eine orale Infektion möglich ist.(ROSEN und ABINANTI, 1960; ROSEN, EVANS und SPICKARD, 1963a; LOU und WENNER, 1963; MASSIE und SHAW, 1966; TRAINOR, MOHANTY und HETRICK, 1966; LAMONT, DARBYSHIRE, DAWSON, OMAR und JENNINGS, 1968; SCOTT, KAHN und GILLESPIE, 1970; THOMPSON, WRIGHT und CORNWELL, 1970; McFERRAN, BASKERVILLE und CONNOR, 1971).

2.2.5 Infektketten

Obwohl bis heute eine Übertragung von Reoviren vom Menschen auf das Tier und umgekehrt nicht nachgewiesen werden konnte, gibt es eine Reihe von Anhaltspunkten, welche eine solche wechselseitige Infektion möglich erscheinen lassen.
Bei den vom Menschen und einer großen Zahl verschiedener Tierspezies isolierten Reovirus-Serotypen 1, 2 und 3 vermißt man wirtsspezifische Charakteristika der Virusstämme völlig (ROSEN und ABINANTI, 1960; ROSEN, ABINANTI und HOVIS, 1963; HARTLEY, ROWE und AUSTIN, 1962; KASEL, ROSEN, und EVANS, 1963; TRAINOR, MOHANTY und HETRICK, 1966; LAMONT, DARBYSHIRE, DAWSON, OMAR und JENNINGS, 1968; McFERRAN, BASKERVILLE und CONNOR;1971; THOMPSON, WRIGHT und CORNWELL, 1970). Infektionsversuche bei Mensch und Tier mit artspezifischen und artfremden Reovirusstämmen lassen in Bezug auf klinischen Verlauf, pathologisch-anatomische Veränderungen und Antikörperbildung keine Unterschiede erkennen. So sind z.B. erfolgreiche Infektionsversuche bei Mensch und Hund mit Rindervirusstämmen (KASEL, ROSEN und EVANS, 1963; THOMPSON, WRIGHT und CORNWELL, 1970), bei Rindern und Schweinen mit humanen Stämmen (ROSEN und ABINANTI, 1960; TRAINOR, MOHANTY und HETRICK, 1966; LAMONT, DARBYSHIRE, DAWSON, OMAR und JENNINGS 1968; McFERRAN, BASKERVILLE und CONNOR, 1971) sowie mit vom Hund isoliertem Reovirus bei Affen, Kaninchen, Meerschweinchen und Frettchen (LOU und WENNER, 1963) durchgeführt worden.

Auch das biologische Verhalten der von den verschiedenen Spezies isolierten Reovirusstämme bei der Züchtung im Versuchstier und in Zellkulturen ist gleich (ROSEN, 1963). Reoviren sind in der Bevölkerung und in der Tierpopulation sehr weit verbreitet (ROSEN, 1962; ROSEN, ABINANTI und HOVIS, 1963; STANLEY und LEAK, 1963; STANLEY, LEAK, GRIEVE und PERRET, 1964; SCHMIDT, TAUCHNITZ und KUHN, 1965; STANLEY, 1967; LAMONT, 1968; HARKNESS, CHAPMAN und DARBYSHIRE, 1971; WIZIGMANN und REINHARDT, 1971). Außerdem sind Reoviren auch schon aus Abwässern, stehenden Gewässern und Flußwasser in Wohngegenden isoliert worden (STANLEY, 1967).
Eine ubiquitäre Verbreitung der Reoviren wird aber die Entstehung von Infektketten auf jeden Fall begünstigen.
Hinweise für eine Mitbeteiligung von Insekten bei der Übertragung von Reoviren ergeben sich aus den biologischen Eigenschaften des Woundtumor Virus und des Rice Dwarf Virus, zweier Pflanzenvirusarten, die der Reovirusgruppe zugeordnet werden. Beide Virusarten vermehren sich in Insekten und werden von diesen auf Pflanzen, außerdem transovariell auf ihre Nachkommenschaft übertragen (Lit. bei STANLEY, 1967). Eine Übertragung von Reoviren der Serotypen 1, 2 und 3 durch Insekten ist bis jetzt nicht nachgewiesen worden. Die Isolierung von Reoviren aus verschiedenen Moskitoarten läßt aber daran denken, daß Insekten als Reovirus-Überträger eventuell in Frage kommen (MILES, AUSTIN, MCNAMARA und MAGWIRE, 1965; PARKER, BAKER und STANLEY, 1965). Allerdings geht aus den Ergebnissen experimenteller Untersuchungen hervor, daß Reoviren der Serotypen 1, 2 und 3 sich in Moskitos nicht aktiv vermehren, jedoch mehrere Tage infektiös bleiben (ROSEN, 1968).

### 2.2.6 Erregerreservoire

STANLEY und LEAK (1963) nahmen an, daß der Mensch das Hauptreservoire für Reoviren darstellt, nachdem sie bei Tieren, die in engem Kontakt mit Menschen lebten, zunächst eine größere Durchseuchungsrate feststellten als bei anderen, mehr isoliert lebenden Tieren. Auf Grund späterer Ergebnisse (STANLEY, LEAK,

GRIEVE und PERRET, 1964), wonach sich auch wildlebende Tiere wie z.B. Fledermäuse, Kurzschwanzkänguruhs und Forellen, welche keinen Kontakt mit dem Menschen gehabt hatten, als in ebenso hohem Maß infiziert erwiesen, erscheint diese Theorie jedoch nicht mehr stichhaltig.
Biologische und epidemiologische Eigenschaften der Reoviren machen grundsätzlich jedes mit Reoviren infiziertes Individuum, gleichgültig, ob Mensch oder Tier, als potentielles Virusreservoir verdächtig.
Sowohl beim Menschen, als auch bei Tieren verlaufen Reovirusinfektionen entweder klinisch inapparent, oder unter uncharakteristischen Symptomen. Das infizierte Lebewesen wird deshalb in der Regel nicht als Virusausscheider erkannt und stellt deshalb für seine Umwelt eine gefährliche, weil unentdeckte Infektionsquelle dar.
Die serologische Identität der entsprechenden, bei den verschiedenen Spezies isolierten Reovirus-Serotypen, sowie erfolgreiche Infektionsversuche mit artfremden Reovirusstämmen (ROSEN und ABINANTI, 1960; KASEL, ROSEN und EVANS, 1963; THOMPSON, WRIGHT und CORNWELL, 1970; McFERRAN, BASKERVILLE und CONNOR, 1971) lassen daran denken, daß Virusträger nicht nur für die eigene, sondern auch für andere Spezies als Virusreservoir in Frage kommen.
Es ist bekannt, daß Reinfektionen mit Reoviren des gleichen Serotyps innerhalb kurzer Zeiträume möglich sind (ROSEN, ABINANTI und HOVIS, 1963). Die Entstehung eines Hospitalismus erscheint deshalb gut möglich.

### 2.2.7 Serotypenprobleme

Die bis heute beim Menschen und einer Vielzahl von Tierspezies bekannten Reovirus-Serotypen 1, 2 und 3 hämagglutinieren Humanerythrozyten, haben ein gemeinschaftliches, komplementbindendes Antigen, unterscheiden sich aber immunologisch und lassen sich im Neutralisationstest und Hämagglutinationshemmungstest differenzieren (SABIN, 1959; ROSEN, 1960; HARTLEY, ROWE und HUEBNER, 1962; LERNER, CHEWY und FINLAND, 1963).

HARTLEY, ROWE und HUEBNER (1962) unterscheiden beim Serotyp 2 noch 4 Subtypen. Sie verglichen 8 von Menschen, Affen, Rind und Mäusen isolierte Reovirusstämme im Hämagglutinationshemmungstest und teilten die Stämme auf Grund antigener Unterschiede in die 4 Subtypen a, b, c und d ein. Stämme der Subtypen a und b waren vom Menschen isoliert worden, die des Subtyps c vom Menschen, von Mäusen und Rindern und die des Subtyps d von Affen und Rindern. Der Reovirus-Serotyp 3 nimmt eine gewisse Sonderstellung ein. Er unterscheidet sich von den Serotypen 1 und 2 durch seine Fähigkeit, außer humanen auch Rindererythrozyten zu agglutinieren (EGGERS, GOMATOS und TAMM, 1962) sowie seine stärkere Virulenz für die Maus.
Interessant sind auch Literaturhinweise über die mehrmalige Isolierung von Reovirus-Serotyp 3 aus Biopsieproben von Burkitt'schen Lymphom des Menschen, nachdem bekannt ist, daß dieser Reovirus-Serotyp bei Mäusen die Bildung eines Lymphoms verursacht, welches dem Burkitt'schen Lymphom sehr ähnlich ist (BELL, MASSIE, ROSS, SIMPSON und GRIFFIN, 1966; STANLEY, 1966; 1967).

Im Hämagglutinationshemmungstest zeigen die 3 Reovirusserotypen eine antigene Verwandtschaft, die zwischen den Serotypen 1 und 2 enger ist als zwischen den Serotypen 1 bzw. 2 und dem Serotyp 3. Bei Mensch und Tier kommt es nach Infektion mit den Serotypen 1 oder 2 manchmal zur Bildung heterologer hämagglutinationshemmender Serumantikörper, was nach Infektion mit dem Serotyp 3 nur sehr selten zu beobachten ist (ROSEN, HOVIS, MATROSTA, BELL und HUEBNER, 1960a; 1960b; ROSEN, EVANS und SPICKARD, 1963a; ROSEN, ABINANTII und HOVIS, 1963b).
Die 5 beim Geflügel isolierten Reovirus-Serotypen zeigen im Neutralisationstest keine Beziehungen zu den bei Mensch und Tieren vorkommenden Reovirus-Serotypen 1, 2 und 3 (KAWAMURA, SHIMIZU, MAEDA und TSUBAHARA, 1965). Antigene Beziehungen zwischen den 5 Geflügel-Reovirus-Serotypen wurden im Neutralisations- und Agargel-Diffusionstest, der Komplementbindungsreaktion und fluoreszenzserologisch nachgewiesen (KAWAMURA und TSUBAHARA, 1966).

## 2.3 Reoviren beim Rind

### 2.3.1 Erstmalige Isolierung

Beim Rind wurden Reoviren erstmals 1959 in den USA nachgewiesen. Um Aufschlüsse über die im Darmtrakt von Rindern vorkommenden Virusarten zu bekommen, untersuchten ROSEN und ABINANTI (1960) und ROSEN, ABINANTI und HOVIS (1963b) in 3 Farmen innerhalb 2 1/2 Jahren 1881 Fäzesproben von 109 Tieren im Alter bis zu 28 Monaten. Dabei isolierten sie von 42 Tieren 56 Reovirusstämme. 38 Isolate von 33 Tieren erwiesen sich als serologisch identisch mit dem vom Menschen isolierten Reovirus-Serotyp.1. 4 Stämme von 3 Tieren entsprachen dem Serotyp 2 und 14 von 12 Tieren dem Serotyp 3 der humanen Reoviren.

### 2.3.2 Vorkommen und Verbreitung

Über das Vorkommen von Reovirus-Infektionen beim Rind ist aus den USA (ROSEN und ABINANTI, 1960; ROSEN, ABINANTI und HOVIS, 1963b; ABINANTI, 1963), aus Australien (STANLEY und LEAK, 1963), Großbritannien (DAWSON, LAMONT und DARBYSHIRE, 1966; LAMONT, 1968; PHILLIP, 1970), Belgien (WELLEMANS, 1969) und der Bundesrepublik Deutschland (WIZIGMANN und REINHARDT, 1971) berichtet worden.
ROSEN und ABINANTI (1960) und ROSEN, ABINANTI und HOVIS (1963b) diagnostizierten bei 109 Tieren aus 3 Farmen innerhalb der ersten 2 Lebensjahre durch direkten und indirekten Virusnachweis 154 Infektionen mit Reoviren. Der Serotyp 1 war mit 91 Infektionen am häufigsten vertreten, gefolgt vom Serotyp 3 (55 Infektionen) und dem Serotyp 2 (8 Infektionen). 124 Infektionen (81 %) betrafen Tiere bis zum Alter von 1 Jahr.

In Großbritannien stellte man durch serologische Untersuchungen von Serumpaaren die Mitbeteiligung von Reoviren der Serotypen 1 bzw. 2 bei respiratorischen Erkrankungen in 59 von 205 Herden fest. Sowohl der Serotyp 1, als auch der Serotyp 3 konnten direkt nachgewiesen werden (LAMONT, 1968). WELLEMANS (1969) diagnostizierte in Belgien serologisch Infektionen mit den

Serotypen 1 und 2.
In der Bundesrepublik Deutschland fanden WIZIGMANN und REINHARDT (1971) unter 155 Schlachtkälbern 108 (70 %) mit hämagglutinationshemmenden Serumantikörpern gegen den Reovirus-Serotyp 1. Antikörper gegenüber dem Serotyp 2 waren in 25 Tieren (16 %) und gegenüber dem Serotyp 3 bei 8 Kälbern (5 %) nachweisbar.

2.3.3 Beziehungen zwischen Infektion und Krankheit

2.3.3.1 Natürliche Infektion

Infektionen mit Reoviren wurden sowohl bei gesunden, als auch bei kranken Tieren diagnostiziert, ROSEN, ABINANTI und HOVIS (1963b), die in 3 Farmen innerhalb von 2 Jahren bei 109 Tieren 154 Reovirus-Infektionen nachwiesen, beobachteten nur in 1 Farm einmal gehäuft Kälbererkrankungen mit Nasenausfluß, Lakrimation und milder Diarrhöe, welche zeitlich mit einer Reovirus-Serotyp 1-Infektion zusammenfielen.
Auch Berichte anderer Autoren sprechen dafür, daß Reoviren bei Erkrankungen von Rindern eine Rolle spielen können. So konnte z.B. LAMONT (1968) durch die Untersuchung von Serumpaaren in 59 von 205 Herden, in welchen respiratorische Erkrankungen auftraten, die Mitbeteiligung von Reoviren der Serotypen 1 bzw. 2 am Krankheitsgeschehen nachweisen. Außerdem gelang ihm die Isolierung von Reoviren der Serotypen 1 und 3 aus Organen von Rindern, welche nach respiratorischer Erkrankung gestorben waren.
DAWSON, LAMONT und DARBYSHIRE (1966) berichteten von 29 Reovirus-Infektionen in 111 "Problembeständen" Großbritanniens und WELLEMANS (1969) wies die Mitbeteiligung der Serotypen 1 und 2 der Reoviren bei respiratorischer Rindererkrankungen in Belgien nach. In der Bundesrepublik Deutschland diagnostizierten WIZIGMANN und REINHARDT (1971) bei Ausbrüchen sogenannter Rindergrippe Infektionen mit Reoviren des Serotyps 1 in 2 Beständen und des Serotyps 2 in 1 Bestand.

2.3.3.2 Experimentelle Infektion

Experimentelle Infektionen sind bei Kälbern und Jungrindern mit allen 3 Reovirus-Serotypen, sowohl mit vom Menschen, als auch mit vom Rind isolierten Virusstämmen durchgeführt worden. Zwar haftete in allen Fällen die Infektion, die Verlaufsformen waren jedoch unterschiedlich.
ROSEN und ABINANTI (1960) infizierten ein Jungrind mit Reovirus Serotyp 1 und ein Kalb am 3. Lebenstag mit Reovirus Serotyp 2, am 31. Lebenstag außerdem mit Reovirus Serotyp 3 intranasal. Alle 3 Virusstämme waren vom Menschen isoliert worden. Innerhalb 13 - 15 Tagen nach der Infektion waren keinerlei Krankheitssymptome zu beobachten.
Ebenso klinisch inapparent verliefen Infektionen mit bovinem und humanen Reovirusstämmen des Serotyps 1 und mit vom Menschen isoliertem Reovirus Serotyp 2 bei neugeborenen, ohne und mit Kolostrum aufgezogenen Kälbern. Bei der Sektion dieser intranasal und intratracheal infizierten Tiere am 4., 7. und 8. Tag nach der Infektion wurde histologisch eine interstitielle Pneumonie mit extensiver Alveolarepithelisation und Pseudoepithelisation festgestellt. Einschlußkörperchen konnten nicht nachgewiesen werden (LAMONT, 1968; LAMONT, DARBYSHIRE, DAWSON, OMAR und JENNINGS, 1968).
TRAINOR, MOHANTY und HETRICK (1966) infizierten Kälber verschiedenen Alters mit Reovirus vom Serotyp 1 intranasal bzw. intratracheal, teilweise in Kombination mit Pasteurella multocida-Keimen und lösten damit bei allen Kälbern eine milde fieberhafte, respiratorische Erkrankung aus. Hinsichtlich des klinischen Verlaufs waren Unterschiede zwischen Tieren, die nur mit Reovirus infiziert und solchen, denen zusätzlich Pasteurellen verabreicht worden waren, nicht erkennbar. Ältere Tiere erkrankten später als jüngere und der Krankheitsverlauf war milder.

2.3.4 Bekämpfung

In Großbritannien entwickelten SHEFKI+ und BENGE+ (1969) als Bestandteil einer trivalenten Vakzine einen Impfstoff gegen die Infektion mit Reovirus-Serotyp 1. Grundlage ist der vom Rind isolierte Reovirusstamm WBR 26, welcher als Reovirusstamm Serotyp 1 klassifiziert worden war (LAMONT, 1968). Das Virus wird in BHK-21-Zellkulturen gezüchtet und mit Betapropiolacton inaktiviert. Als Adjuvans dient "Alhydrogel" in einer Endkonzentration von 20 %. Eine Impfdosis enthält mindestens $10^7 KID_{50}$ des Virus. SHEFKI und BENGE (1969) berichten über die zweimalige intramuskuläre Impfung von 7 Kälbern im Abstand von 14 Tagen mit einer trivalenten Vakzine, welche neben dem inaktivierten Reovirus auch inaktiviertes Parainfluenza-3- und inaktiviertes Adenovirus vom Serotyp 3 enthielt. Vor der ersten Impfung waren bei den Tieren keine hämagglutinationshemmenden Serumantikörper gegenüber dem Reovirus-Serotyp 1 nachweisbar (Titer < 1:20). Auf die erste Impfung reagierten 6 von 7 Kälber mit der Bildung von Antikörpern (Titer 1:40-1:80). 14 Tage nach der zweiten Impfung lagen die Serumantikörpertiter zwischen 1:160 und 1:5120. Mit 1:160 wies das Tier, welches auf die erste Impfung nicht serologisch nachweisbar reagiert hatte, den niedrigsten Antikörpertiter auf.

## 3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### 3.1 Material und Methoden

#### 3.1.1 Zellkulturen

Die Herstellung der Reovirus-Antigene erfolgte in permanenten Kulturen aus VERO-Zellen (African green monkey kidney cell line). Zur Vermehrung des Zellstammes wurden die in Roux-Schalen zu einem dichten Rasen ausgewachsenen Zellen mit einer 0,02 %igen Versenlösung bei 37°C abgelöst und die Zellsuspension 5 Minuten bei 1000 U/Min. zentrifugiert. Die sedimentierten Zellen nahm man in Anzuchtmedium auf und kultivierte sie stationär bei 37°C. Die Vermehrungsrate betrug 1:2 - 1:3. In

+Twyford Laboratories, London

der Regel bildeten die Zellen innerhalb 2 - 4 Tagen wieder einen dichten Zellrasen.
Das Anzuchtmedium bestand aus einer Mischung von 78 % Hanks' scher Lösung, 10 % Laktalbumin einer 5 %igen Lösung, 10 % Kälberserum, 2 % Phenolrot einer 0,1 %igen Lösung und Antibiotika (200 I.E. Penicillin und 200 Streptomycin). Zur Justierung des pH-Wertes wurden pro Liter Medium 6 ml einer 10 %igen $NaHCO_3$-Lösung zugesetzt. Als Virusmedium diente das Leibowitz-Medium Nr. 15 (L-15) mit Antibiotika in der o. a. Menge.

3.1.2 Virusstämme

Zur Herstellung der Testantigene wurden folgende 3 vom Menschen isolierte Reovirus-Stämme (Die Virusstämme erhielten wir in dankenswerter Weise von Herrn Dr. P.H.Lamont, Central Veterinary Laboratory, New Haw, Weybridge, Surrey) herangezogen:

Reovirus Serotyp 1, Stamm Lang,
Reovirus Serotyp 2, Stamm Jones und
Reovirus Serotyp 3, Stamm Dearing

3.1.3 Herstellung der Antigene

Das Anzuchtmedium dichter, in Roux-Schalen gewachsener Vero-Zellkulturen wurde durch Virusmedium (100 ml pro Roux-Schale) ersetzt und die Kulturen nach Beimpfung mit 5 ml unverdünnten Virusmaterials stationär bei 37°C bebrütet.
Die Ernte der Antigene erfolgte nach 90-100 %iger Zerstörung des Zellrasens. Dies dauerte bei Reovirus Serotyp 1 8 - 11 Tage, bei Serotyp 2 18 - 21 Tage und bei Serotyp 3 5 - 8 Tage. Die Kulturen wurden bei -20°C eingefroren, wieder aufgetaut, der Zelldetritus durch Zentrifugation (3000 U/Min., 10 Min.) entfernt. Der Überstand, in Mengen von 5 ml abgefüllt und bei -20°C gelagert, diente als Testantigen.
Für die serologischen Untersuchungen wurden die 7. Kulturpassage des Serotyps 1, die 6. Kulturpassage des Serotyps 2 und die 8. Kulturpassage des Serotyps 3 der Reoviren als

Virusmaterial verwendet.

3.1.4 Zahl, Alter und Herkunft der untersuchten Tiere

Die Untersuchungen umfaßten insgesamt 432 Kälber- und Rinderseren. 220 Seren stammten von gesunden Schlachtkälbern aus dem Schlachthof München und 212 Seren von Rindern aus 120 Beständen in 36 Landkreisen Bayerns und Baden-Württembergs.
Die Kälberseren waren im Frühjahr 1971, die Rinderseren in den Jahren 1968, 1970 und 1971 gesammelt worden (Tabelle 2).
Bis zur Verwendung lagerten die Seren bei -20°C.

Tabelle 2: Zahl, Alter und Herkunft der untersuchten Tiere

| Tiergruppe | Datum der Blutentnahme | Zahl | Tiere<br>Herkunft | Alter |
|---|---|---|---|---|
| A | 1971 | 220 | Schlachthof München | ca 3 Monate |
| B | 1968 | 150 | 96 Bestände | 9 Monate bis 14 Jahre |
| | 1970/71 | 62 | 24 Bestände | unbekannt |

### 3.1.5 Hämagglutinationstest

Zur Titration der Reovirus-Hämagglutinine wurde eine in 2er Potenzen steigende Virusverdünnungsreihe hergestellt. Als Verdünnungsflüssigkeit diente physiologische Kochsalzlösung (0,85 %, pH 7,2). Den Verdünnungen wurde jeweils die gleiche Menge (0,3 ml) einer frischen 0,4 %igen Aufschwemmung von Humanerythrozyten der Blutgruppe "0" zugesetzt. Die Ablesung erfolgte nach einer Inkubation von ca 60 Minuten bei Zimmertemperatur, sobald die Blutkörperchen in den Erythrozyten-NaCl-Kontrollröhrchen vollständig sedimentiert waren. Als Endtiter galt die höchste Virusverdünnung, bei der noch eine vollständige Agglutination (+++) der Erythrozyten zu beobachten war.

### 3.1.6 Hämagglutinationshemmungstest (HAH-Test)

Die Durchführung des HAH-Testes zur Erfassung hämagglutinationshemmender Serumantikörper geschah in Anlehnung an die von ROSEN (1960) beschriebene Technik.
1 ml bei 56°C während 30 Minuten inaktivierten Serums mischte man mit 7 ml einer 25 %igen Kaolinsuspension. Nach einstündiger Inkubation bei Zimmertemperatur wurde das Gemisch zentrifugiert (1.500 g/10 Minuten) und der Überstand zur Entfernung der Isoagglutinine mit Humanerythrozyten der Blutgruppe 0 vorbehandelt. Die Menge der zugegebenen Erythrozyten war 0,05 ml einer 10 %igen Suspension pro ml Überstand. Es schloß sich eine Inkubation von 1 Stunde bei Zimmertemperatur an, danach wurden die Erythrozyten abzentrifugiert (1.500 g/10 Minuten). Der Überstand galt als Serumverdünnung 1:8 und diente als Ausgangsmaterial für die anschließende Serumverdünnungsreihe in 2er Potenzen, angelegt bis zur Verdünnung 1:512. Zu jeder Serumverdünnung kam eine konstante Menge Antigen (4 vollagglutinierende Einheiten). Nach gutem Durchschütteln blieben die Reaktionsgemische 1 Stunde bei Zimmertemperatur stehen. Anschliessend wurde in jedes Röhrchen eine 0,4 %ige Suspension von Humanerythrozyten der Blutgruppe 0 einpipettiert, die Röhrchen

gründlich geschüttelt und bei Zimmertemperatur stehen gelassen.
Für die Herstellung der Kaolinsuspension, zur Verdünnung von Seren und Antigen sowie für die Suspendierung der Erythrozyten ist sterile physiologische Kochsalzlösung (0,85 %ig, pH 7,2) verwendet worden. Die Reaktionsmengen betrugen 0,3 ml.
In jedem Test liefen Testserumkontrolle, Antigenkontrolle, NaCl-Erythrozytenkontrolle sowie als negatives Kontrollserum fötales Kälberserum mit.
Die Ablesung erfolgte, wenn die Erythrozyten in den Kontrollröhrchen sedimentiert waren, was einer Zeit von etwa 2 Stunden entsprach.
Als Antikörpertiter galt die höchste Serumverdünnung, welche die hämagglutinierende Aktivität des Testantigens noch vollständig hemmte. Titer von 1:8 oder kleiner wurden als negativ, solche von 1:16 oder größer als positiv bewertet.
Die höchste Serumverdünnung, welche die hämagglutinierende Aktivität des Testantigens noch vollständig hemmte, galt als Grenzverdünnung ("Antikörpertiter").
Als beweisend für eine vollständige Hemmung der Hämagglutination (=negative Hämagglutination) wurde das zungenförmige Auslaufen der sedimentierten Erythrozyten nach Schräghalten der Teströhrchen angesehen.

## 3.2 Versuche und Ergebnisse

### 3.2.1 Untersuchungen über das Vorkommen hämagglutinationshemmender Antikörper gegenüber Reoviren der Serotypen 1, 2 und 3 in Kälber- und Rinderseren

Insgesamt sind 432 Kälber- und Rinderseren in die Untersuchungen einbezogen worden. Davon stammten 220 Seren von gesunden Schlachtkälbern (Tiergruppe A) und 212 Seren von Rindern unterschiedlichen Alters aus 120 Beständen (Tiergruppe B).
Von den 432 Tieren wiesen 226 (52,3 %) einen positiven Titer hämagglutinationshemmender Serumantikörper gegenüber dem Reo-

virus-Serotyp 1 auf. Positive Titer gegenüber dem Serotyp 2 hatten 99 (22,9 %) und gegenüber dem Serotyp 3 79 (18,2%) der Tiere (Tabelle 3).
Bei 274 (63,5 %) der 432 Kälber und Rinder waren Antikörper gegen 1, 2 oder alle 3 Serotypen nachweisbar. Gegenüber nur einem Serotyp reagierten 172 (39,8 %), gegenüber 2 Serotypen 74 (17,2 %) der Tiere positiv und 28 (6,5 %) Tiere hatten serologisch nachweisbare Antikörper gegen alle 3 Reovirus-Serotypen. Bei älteren Tieren war der gleichzeitige Nachweis von Antikörpern gegen 2 oder 3 Serotypen häufiger (29,7 %) als bei Schlachtkälbern (17,7 %) (Tabelle 4).
Bezogen auf die Zahl der Herkunftsbestände der Rinder der Gruppe B ergab sich folgendes Bild. Rinder mit Serotyp 1-Antikörpern fanden sich in 56 (46,6 %) von 120 Beständen. Beim Serotyp 2 waren es 49 (40,8 %) und beim Serotyp 3 50 (41,6 %) Bestände mit serologisch positiven Reagenten.

Die Ergebnisse bei den beiden Tiergruppen A und B waren sehr unterschiedlich.
Der prozentuale Anteil positiver Reagenten gegenüber dem Serotyp 1 war bei den jungen Tieren (Gruppe A) mit 67,8 % wesentlich höher als bei älteren Tieren (Gruppe B) mit 37,2 %. Bezüglich der Antikörper gegen die Serotypen 2 und 3 ergab sich das entgegengesetzte Bild. So waren Serotyp 2-Antikörper nur bei 17,7 % der jungen, aber bei 28,3 % der älteren Tiere nachweisbar. Noch deutlichere Unterschiede ergaben sich beim Serotyp 3. Von den untersuchten Schlachtkälbern hatten nur 5,5 %, von den älteren Tieren jedoch 31,6 % entsprechende Serumantikörper. Die Einzelergebnisse sind in Tabelle 3 wiedergegeben.

Hämagglutinations-Hemmungstest gegenüber Reoviren der Serotypen 1, 2 und 3.

| Reovirus serotypen | Tiergruppe und Zahl der Tiere | Serum - Antikörpertiter | | | | | | | Summe der Tiere mit positivem Antikörpertiter |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | negativ | positiv | | | | | | |
| | | <1:8 - 1:8 | 1:16 | 1:32 | 1:64 | 1:128 | 1:256 | ≥1:512 | |
| Serotyp 1 | A (220) | 73(32,2 %) | 9 | 19 | 33 | 44 | 27 | 15 | 147(67,8 %) |
| | B (212) | 133(62,8%) | 24 | 19 | 21 | 12 | 1 | 2 | 79(37,2 %) |
| | A+B (432) | 206(47,7%) | 33 | 38 | 54 | 56 | 28 | 18 | 226(52,3 %) |
| Serotyp 2 | A (220) | 181(82,3%) | 13 | 8 | 10 | 3 | 4 | 1 | 39(17,7 %) |
| | B (212) | 152(71,7%) | 21 | 23 | 11 | 4 | 1 | 0 | 60(28,3 %) |
| | A+B (432) | 333(77,1%) | 34 | 31 | 21 | 7 | 5 | 1 | 99(22,9 %) |
| Serotyp 3 | A (220) | 208(94,5%) | 7 | 3 | 0 | 2 | 0 | 0 | 12( 5,5 %) |
| | B (212) | 145(68,4%) | 48 | 15 | 4 | 0 | 0 | 0 | 67(31,6 %) |
| | A+B (432) | 353(81,8%) | 55 | 18 | 4 | 2 | 0 | 0 | 79(18,2 %) |

Tabelle 4: Vorkommen von hämagglutinationshemmenden Antikörpern gegenüber 1, 2 und 3 Reovirus-Serotypen in Kälber- und Rinderseren

| Tiergruppen und Zahl der Tiere | Antikörpernachweis | | | |
|---|---|---|---|---|
| | negativ | positiv | | |
| | | 1 Serotyp | 2 Serotypen | 3 Serotypen |
| A 220 | 67 (30,5 %) | 114 (51,8%) | 33 (15,0 %) | 6 (2,7 %) |
| B 212 | 91 (42,9 %) | 58 (27,4%) | 41 (19,3 %) | 22 (10,4 %) |
| A+B 432 | 158 (36,5 %) | 172 (39,8%) | 74 (17,2 %) | 28 (6,5 %) |

3.2.2 Beziehungen zwischen der Häufigkeit des Antikörpernachweises, dem durchschnittlichen Serumantikörpertiter und dem Alter sowie der Herkunft der untersuchten Tiere

Die untersuchten 220 Schlachtkälber sowie 150 ältere Tiere, deren Alter genau bekannt war, wurden in 4 Altersgruppen aufgeteilt und die Ergebnisse der Serumuntersuchungen entsprechend aufgeschlüsselt. In die Gruppe 1 wurden die 220 Schlachtkälber eingeordnet. Die folgenden 3 Gruppen umfaßten je 50 Rinder im Alter von 3/4 - 2, 3 - 6 bzw. 7 - 14 Jahren. Für jede Altersgruppe und jeden Reovirus - Serotyp wurde die Anzahl der serologisch positiven Reagenten und deren durchschnittlicher Serumantikörpertiter errechnet (Tabelle 5).
Unter den Tieren mit Antikörpern gegenüber dem Reovirus-Serotyp 1 war der Anteil serologisch positiver Reagenten bei den Schlachtkälbern mit 67,8 % am höchsten. Demgegenüber hatten

in der nächsten Altersgruppe (3/4 - 2 Jahre) nur 28 % der Tiere Antikörper. Bei den Rindern im Alter von 3 - 6 Jahren waren es 42 % und bei den ältesten Tieren 60 % mit Antikörpern. Der durchschnittliche Titer hämagglutinationshemmender Antikörper gegenüber dem Serotyp 1 war bei den jüngsten Tieren am höchsten (1:130,9) und lag bei den älteren Tieren um über die Hälfte niedriger (1:42,6 - 1:61,2).

Der Prozentsatz der Tiere mit Antikörpern gegenüber den Reovirus-Serotypen 2 und 3 war bei den Schlachtkälbern am geringsten (17,7 % bzw. 5,5 %), nahm mit steigendem Alter zu und erreichte bei den ältesten Rindern 42 % bzw. 56 %.
Die durchschnittlichen Titerwerte waren am höchsten bei den Antikörpern gegen Reovirus-Serotyp 1 und am niedrigsten beim Serotyp 3. Parallelen wurden jedoch insofern sichtbar, als die durchschnittlichen Titer bei den jüngsten Tieren (Schlachtkälber) immer am höchsten waren, mit zunehmendem Alter (3/4 - 6 Jahre) zunächst geringer wurden und bei den 7 - 14 Jahre alten Rindern wieder leicht anstiegen, jedoch bei keinem Serotyp die Werte der Schlachtkälber erreichte.

Tabelle 5: Ergebnisse der Hämagglutinations-Hemmungsteste mit Seren von 370 Tieren verschiedener Altersgruppen gegenüber Reoviren der Serotypen 1, 2 und 3.

| Reovirus-serotypen | Altersgruppe | Zahl der untersuchten Tiere | Antikörpernachweis | | Durchschnittliche Titerhöhe der positiven Reagenten | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | negativ <1:16 | positiv ≥1:16 | | |
| Serotyp 1 | ca 3 Mon. | 220 | 73(32,2%) | 147(67,8%) | 1:130,9 | 1:54,0 |
| | 3/4-2 3/4J. | 50 | 36(72,0%) | 14(28,0%) | 1:61,2 | |
| | 3 - 6 J. | 50 | 29(58,0%) | 21(42,0%) | 1:42,6 | |
| | 7 -14 J. | 50 | 20(40,0%) | 30(60,0%) | 1:56,6 | |
| Serotyp 2 | ca 3 Mon. | 220 | 181(82,3%) | 39(17,7%) | 1:70,9 | 1:41,6 |
| | 3/4-2 3/4J. | 50 | 38(76,0%) | 12(24,0%) | 1:56,0 | |
| | 3 - 6 J. | 50 | 34(68,0%) | 16(32,0%) | 1:29,5 | |
| | 7 -14 J. | 50 | 29(58,0%) | 21(42,0%) | 1:42,6 | |
| Serotyp 3 | ca 3 Mon. | 220 | 208(94,5%) | 12( 5,5%) | 1:32,6 | 1:19,2 |
| | 3/4-2 3/4J. | 50 | 39(78,0%) | 11(22,0%) | 1:18,9 | |
| | 3 - 6 J. | 50 | 32(64,0%) | 18(36,0%) | 1:17,5 | |
| | 7 -14 J. | 50 | 22(44,0%) | 28(56,0%) | 1:20,5 | |

In der Tabelle 6 sind die Tiere entsprechend dem Zeitpunkt der Blutentnahme geordnet und die entsprechenden Prozentsätze positiver Reagenten und deren durchschnittlicher Antikörpertiter angegeben. Die Ergebnisse bei den Tieren aus dem Jahr 1968 dürfen für die Population von Jungrindern und erwachsenen Tieren als weitgehend repräsentativ angesehen werden: die 150 Tiere hatten ein Alter von 9 Monaten bis zu 14 Jahren und stammten aus 96 Beständen in 31 Landkreisen.
Der Prozentsatz der Rinder mit Antikörpern gegen Reovirus Serotyp 1 war am größten, gefolgt von Tieren mit Serotyp 3-Antikörpern (38 %) und denen mit Serotyp 2-Antikörpern (33 %). Die Titer der Serotyp 1-Antikörper waren am höchsten, die der Typ 3-Antikörper am niedrigsten.
Die Ergebnisse dieser Gruppe lassen sich nur schwer mit denen der Rinder und Kälber aus den Jahren 1970 und 1971 vergleichen. Bei den Rindern aus dem Winter 1970/71 handelte es sich durchwegs um Tiere, welche unter respiratorischen Symptomen erkrankt waren. Solche Probleme treten jedoch erfahrungsgemäß fast ausschließlich bei Tieren im Alter von bis zu 2 Jahren auf. Das Alter dieser Tiere ist im Durchschnitt also sicher wesentlich niedriger als bei den Rindern aus dem Jahr 1968. Das Auftreten von Reovirusinfektionen ist aber, wie aus Tabelle 5 hervorgeht, abhängig vom Alter der Tiere. Außerdem, und dies trifft auch auf die Kälber aus dem Jahr 1971 zu, wachsen bei der heute geübten Art der Rinderhaltung die meisten Kälber und Jungrinder unter Verhältnissen auf, die sich immunbiologisch und epidemiologisch von denen älterer Tiere grundsätzlich unterscheiden.

Der relative Anteil serologisch positiver Reagenten war bei den Rindern aus dem Winter 1970/71 mit 23 % (Serotyp 1-Antikörper), 18 % (Serotyp 2) und 16 % (Serotyp 3) wesentlich niedriger als bei den Rindern aus dem Jahr 1968, die durchschnittlichen Antikörpertiter sind dagegen höher.
Bei den Kälbern aus dem Jahr 1971 überwiegen mit 68 % die Tiere mit Antikörpern gegenüber dem Reovirus Serotyp 1. 18 % hatten Serotyp 2- und nur 6 % Serotyp 3-Antikörper.

Tabelle 6: Prozentsatz+ und durchschnittlicher Antikörpertiter serologisch positiver Reagenten gegenüber Reoviren in verschiedenen Zeiträumen

| Tiere | Jahr der Blutentnahme | Prozentsatz+ positiver Reagenten und durchschnittlicher Antikörpertiter | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Serotyp 1 | Serotyp 2 | Serotyp 3 |
| 150 Rinder | 1968 | 43 %,1: 54 | 33 %, 1:42 | 38 %, 1:19 |
| 62 Rinder | 1970/71 | 23 %,1:100 | 18 %, 1:50 | 16 %, 1:23 |
| 220 Rinder | 1971 | 68 %,1:131 | 18 %, 1:70 | 6 %, 1:32 |

+ Prozentzahlen abgerundet

## 4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

432 Seren von Kälbern und Rindern unterschiedlichen Alters sind auf hämagglutinationshemmende Antikörper gegenüber den Reovirus-Serotypen 1, 2 und 3 untersucht wörden.
Es ist bekannt, daß Blutseren Substanzen enthalten können, welche die hämagglutinierende Aktivität von Reoviren unspezifisch hemmen und im Hämagglutinationshemmungstest möglicherweise zu irreführenden Ergebnissen führen.
SCHMIDT, DENNIS, HOFFMAN und LENNETTE (1964) kamen auf Grund chemischer Untersuchungen zu dem Schluß, daß es sich bei den gegen das Reovirushämagglutinin gerichteten Inhibitoren in Humanseren um hitzestabile Phospholipidkomplexe handelt. Von MANN, ROSEN, LEHRICH und KASEL (1967) wurden diese Inhibitoren mittels Immunelektrophorese und Agargel-Diffusionstest als -Lipoprotein oder eine mit -Lipoprotein gekoppelte Substanz charakterisiert. Zur Entfernung der Inhibitoren wird eine kombinierte Heparin-Manganchlorid-Behandlung empfohlen. Diese Behandlung führt zur sicheren Entfernung der unspezifischen Inhibitoren und hat außerdem den Vorteil, daß gleichzeitig weniger als 10 % der Immunglobuline ausgeschaltet werden, während eine Serumbehandlung mit Kaolin in 12,5 %iger Konzentration zum Verlust von 40 - 60 % der Immunglobuline führt.
Die Natur der in Rinderseren vorkommenden, gegen das Reovirus-Hämagglutinin gerichteten Hemmsubstanzen ist bis jetzt nicht näher untersucht worden, und es ist ungewiß, ob sie die gleiche biochemische Struktur haben wie die Inhibitoren in Humanseren.

Die Titer hämagglutinationshemmender Antikörper in Rinderseren sind direkt abhängig von der bei der Vorbehandlung verwendeten Kaolinkonzentration. Kaolin, in einer Endkonzentration von 25 % eingesetzt, kann, verglichen mit Ergebnissen bei unbehandelten Kälberseren, ein Absinken der Antikörpertiter um 2 - 3 2er Potenzen bewirken. Eine 50 %ige Kaolinkonzentration läßt selbst hohe Antikörpertiter auf Werte von unter 1:8 sinken. Die Einwirkungszeit des Kaolins (5 - 60 Minuten) bleibt dabei ohne Einfluß (WIZIGMANN 1971).

Einer Verwendung von Kaolin zur Beseitigung unspezifischer Inhibitoren in Seren haften also große Nachteile an. Trotzdem wurde die Serumbehandlung mit Kaolin durchgeführt und zwar aus folgenden Gründen. Bis heute existiert zwar kein internationaler Standard zur Entfernung unspezifischer, gegen das Reovirushämagglutinin gerichteter Seruminhibitoren, die Verwendung von Kaolin hat sich jedoch international eingebürgert. Die Anwendung der bei anderen Teams gebräuchlichen Methoden bringt somit den Vorteil, eigene Ergebnisse besser mit denen anderer Autoren vergleichen zu können.
Eine künstliche Erniedrigung der Serumtiter spezifischer Reovirusantikörper durch vorausgehende Kaolinbehandlung wurde bewußt in Kauf genommen. Der Prozentsatz der tatsächlich mit Reoviren infizierten Rinder in vorliegenden Untersuchungen liegt deshalb zwar wahrscheinlich niedriger als es tatsächlich der Fall ist, für eine Beurteilung des Gesamtbildes hat dies aber nur einen sehr geringen Einfluß. Das artifizielle Absenken der Serumantikörpertiter wird auch dazu führen, daß die Titer heterologer Mitreaktionen ("unspezifischer" Serumantikörper) in den Endresultaten wesentlich weniger ins Gewicht fallen.
Die Ergebnisse der Untersuchungen machen deutlich, daß Reovirus-Infektionen in unserer Rinderpopulation sehr häufig sind. Von 432 Tieren hatten 274 (63,5 %) hämagglutinationshemmende Antikörper gegenüber 1, 2 oder 3 Reovirus-Serotypen. Der Prozentsatz der von den 3 verschiedenen Serotypen betroffenen Bestände war mit 46,6 % bei Serotyp 1, 40,8 % bei Serotyp 2 und 41,6 % bei Serotyp 3 annähernd gleich.
Am häufigsten wurde der Serotyp 1 nachgewiesen (52,3 % positive Reagenten). Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen anderer Autoren (ROSEN und ABINANTI, 1960; ROSEN, ABINANTI und HOVIS, 1963b). In wesentlich geringerem Umfang fanden sich Antikörper gegen die Serotypen 2 (22,9 %) und 3 (18,2 %).

Auffallend waren vor allem deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Altersgruppen.

Antikörper gegen den Reovirus-Serotyp 1 waren bei Schlachtkälbern wesentlich häufiger (67,8 %) anzutreffen als bei älteren Tieren (37,2 %). Noch deutlicher werden die Unterschiede sichtbar, wenn man die älteren Tiere ihrem Alter entsprechend noch weiter aufteilt und gleichzeitig in den einzelnen Gruppen den Prozentsatz positiver Reagenten und die durchschnittlichen Serumantikörpertiter miteinander vergleicht. In keiner der 3 Gruppen älterer Tiere erreichte der relative Anteil positiver Reagenten und der durchschnittliche Serumantikörpertiter so hohe Werte wie bei den ca. 3 Monate alten Schlachtkälbern.
Der durchschnittliche Antikörpertiter war bei den Schlachtkälbern sogar über doppelt so hoch wie bei den älteren Tieren.
Zieht man außerdem in Betracht, daß Kolostralantikörper normalerweise nur noch bei 25 % der 3 Monate alten Kälber vorkommen (ROSEN, ABINANTI und HOVIS, 1963b), so läßt sich aus den Ergebnissen unschwer erkennen, daß die nachgewiesenen Antikörper nur zum geringen Teil maternalen Ursprungs sein können und überwiegend Folge einer Infektion sind.
Der Gruppe der 3/4 - 2 3/4 Jahre alten Tiere fanden sich am wenigsten positive Reagenten und mit zunehmendem Alter vergrößert sich ihre Zahl wieder. Man kann dies als Hinweis dafür gelten lassen, daß bei Jungrindern die Titer aktiv erworbener Serumantikörper zunächst absinken und sich die Tiere mit fortschreitendem Alter erneut infizieren. Es muß aber doch darauf hingewiesen werden, daß die Gruppe älterer Rinder jeweils nur 50 Tiere umfaßten und deshalb die Aussagekraft der Ergebnisse beschränkt ist.

Die Reovirus-Serotypen 2 und 3 scheinen sich epidemiologisch vom Serotyp 1 zu unterscheiden.
Zunächst fällt ihre wesentlich geringere Frequenz auf. Nur 22,9 % der Tiere hatten Antikörper gegen den Serotyp 2 und 18,2 % gegen den Serotyp 3, im Gegensatz zu 52,3 % positiver Reagenten beim Serotyp 1. Außerdem kommen Serotyp-2 und Sero-

typ-3 Antikörper , wiederum in Gegensatz zu den Befunden betreffend den Serotyp 1, bei den jüngsten Tieren am seltensten vor (17,7 % bzw. 5,5 %). Mit zunehmendem Alter häufen sich die Infektionen mit Reoviren der Serotypen 2 und 3, was schließlich in der Gruppe der ältesten, 7 - 14 Jahre alten Tiere die Zahl positiver Reagenten auf 42 % (Serotyp 2) bzw. 56 % (Serotyp 3) anwachsen läßt.
Die durchschnittlichen Titer der gegen Reovirus-Serotypen 2 und 3 gerichteten Antikörper lassen grundsätzlich die gleiche Gesetzmäßigkeit wie bei den Serotyp-1-Antikörpern erkennen: die höchsten Werte zeigten die jüngsten Tiere, mit zunehmendem Alter sinken die Titer zunächst ab und werden erst bei den ältesten Tieren (Alter 7 - 14 Jahre) wieder höher. Allerdings waren die Unterschiede bei den Serotyp-2- und -3-Antikörper nicht so deutlich ausgeprägt wie bei den Serotyp-1-Antikörpern und lassen eine definitive Aussage nicht zu.

Schließlich bleibt noch die Frage, inwieweit die ermittelten Ergebnisse möglicherweise verfälscht sind durch die Bildung bzw. den Nachweis heterologer Antikörper. Bei Rindern sind solche Mitreaktionen nicht sehr häufig und die Titer heterologer Antikörper sind in der Regel niedriger als die homologen Antikörper (ROSEN, ABINANTI und HOVIS, 1963).
Rechnet man noch mit ein, daß die Kaolinbehandlung niedrige Antikörpertiter in den Bereich der als "negativ" beurteilten Reaktionen (Titer ≤ 1:8) absinken läßt, so war die Chance, heterologe als homologe Antikörper zu erfassen, von vorneherein relativ gering. Dies wird auch durch die vorliegenden Ergebnisse weitgehend bestätigt:

a) Von den insgesamt 432 untersuchten Kälbern und Rindern hatten 274 (63,5 %) Antikörper gegenüber Reoviren. Bei 132 Tieren (48,2 %) waren nur Antikörper gegen Reovirus-Serotyp 1, bei 12 Tieren (4,4 %) nur Antikörper gegen den Serotyp 2 und bei 28 Tieren (10,2 %) ausschließlich Antikörper gegen den Serotyp 3 nachweisbar.

b) Über die Hälfte der positiven Reagenten (172) hatten Antikörper gegen nur 1 Serotyp, 74 Tiere Antikörper gleichzeitig gegen 2 Serotypen und 28 gegen alle 3 Serotypen.
In diese Zahlen sind auch die älteren Tiere mit eingeschlossen, wobei zu berücksichtigen ist, daß sich mit zunehmendem Alter die Reovirus - Serotyp 2- und -3- Infektionen häufen, also schon deshalb die Zahl der Tiere mit Antikörpern gegenüber mehreren Serotypen zunimmt. Deshalb vermitteln die ausschließlich bei Kälbern ermittelten Ergebnisse ein besseres Bild:

c) Bei 153 (69,5 %) von 220 Kälbern ließen sich Reovirus-Antikörper nachweisen. 51,8 % hatten Antikörper gegenüber nur 1 Serotyp, 15 % gegen 2 Serotypen und 2,7 % gegen alle 3 Serotypen.

Rinderseren, welche im Jahr 1968 gesammelt worden waren, hatten zu 33 - 43 % Antikörper gegenüber den Reovirus-Serotypen 1, 2 und 3. Dies zeigt klar, daß Reovirusinfektionen in unserer Rinderpopulation seit Jahren vorkommen. Direkte Vergleiche mit Ergebnissen, welche auf der Untersuchung von Seren aus den Jahren 1970 und 1971 basieren, sind aber nicht möglich, da sich diese Tiere von denen aus dem Jahr 1968 altersmäßig unterscheiden und deshalb anderen immunbiologischen und epidemiologischen Gesetzmäßigkeiten unterworfen sind.

Allein das nachgewiesene häufige Vorkommen von Reoviren in unseren Rinderbeständen sagt noch nichts aus über ihre Bedeutung für Kälber- und Rindererkrankungen, da sowohl natürliche als auch experimentell erzeugte Reovirusinfektionen klinisch inapparent verlaufen können (ROSEN und ABINANTI,1960; ROSEN, ABINANTI und HOVIS, 1963b;TRAINOR, MOHANTY und HETRICK, 1966; LAMONT, 1968; LAMONT, DARBYSHIRE, DAWSON, OMAR und JENNINGS, 1968). Anderseits berichten mehrere Autoren über die Mitbeteiligung von Reoviren aller 3 Serotypen bei Erkrankungen

welche überwiegend mit respiratorischen, seltener mit enteritischen Symptomen einhergingen (ROSEN, ABINANTI und HOVIS, 1963b; DAWSON, LAMONT und DARBYSHIRE, 1966; LAMONT, 1968; WELLEMANS, 1969). Daß Reoviren auch bei den in unseren Rinderbeständen auftretenden Rindererkrankungen eine Rolle spielen können, wurde durch WIZIGMANN und REINHARDT (1971) sowie WIZIGMANN (1971) nachgewiesen. Diese Untersuchungen umfaßten aber ausschließlich Ausbrüche von sogenannter Rindergrippe ("Enzootische Bronchopneumonie des Rindes") bei Tieren im Alter von 1/4 - 2 Jahren. Dazu konnten neben Infektionen mit Adenoviren (Serotypen 3, 5 und 6) und Rhinoviren auch Reovirusinfektionen diagnostiziert werden. Sie betrafen den Serotyp 1 in 3 Beständen und den Serotyp 2 in 1 Bestand. Ergänzend muß hierzu bemerkt werden, daß bei der Rindergrippe bakterielle Infektionen eine entscheidende Rolle spielen.

Das Vorkommen klinisch inapparenter Verlaufsformen von Reovirusinfektionen einerseits, sowie die Mitbeteiligung von Reoviren bei Kälber- und Rindererkrankungen andererseits, machen deutlich, daß auch die Reoviren in die Gruppe der Erreger von Faktorenerkrankungen einzuordnen sind. Von Faktorenerkrankungen sind hauptsächlich Kälber und Jungrinder bis zum Alter von 2 Jahren bedroht, und zwar insbesondere bei der Massentierhaltung.

Vorliegende Untersuchungsergebnisse und der mehrmalige Nachweis einer Mitbeteiligung von Reoviren des Serotyps 1 (WIZIGMANN und REINHARDT, 1971; WIZIGMANN, 1971) bei respiratorischen Erkrankungen der Jungrinder weisen darauf hin, daß dem Reovirus-Serotyp 1 beim Krankheitsgeschehen in unseren Jungtierbeständen eine große Bedeutung zukommt. Dem muß bei Überlegungen bezüglich einer erweiterten Immunprophylaxe in unseren Kälber- und Jungrinderbeständen Rechnung getragen werden.

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

220 Seren von gesunden Schlachtkälbern aus dem Schlachthof München und 212 Rinderseren aus 120 Beständen in 36 Landkreisen Bayerns und Baden-Württembergs wurden auf das Vorkommen von hämagglutinationshemmenden Antikörpern gegenüber Reoviren der Serotypen 1, 2 und 3 untersucht.

Bei 274 (63,5 %) der 432 Kälber und Rinder waren Reovirusantikörper nachweisbar.

226 Tiere (52,3 %) hatten einen positiven Serumantikörpertiter gegenüber dem Serotyp 1, 99 (22,9 %) gegenüber dem Serotyp 2 und 79 (18,2 %) gegenüber dem Serotyp 3.

Gegenüber einem Serotyp reagierten 172 (39,8 %),gegenüber zwei Serotypen 74 (17,2 %) und gegenüber allen drei Serotypen 28 Tiere (6,5 %) serologisch positiv.

Unterschiedliche Ergebnisse bei Tieren verschiedener Altersgruppen weisen darauf hin, daß Infektionen mit Reovirus-Serotyp 1 hauptsächlich bei Kälbern vorkommen, während Serotyp-2- und -3-Infektionen vorwiegend ältere Tiere betreffen.

SUMMARY

220 sera originated from healthy calves slaughtered at the abbatoir in München, and 212 sera of adult cattle from 120 premises in 36 counties of Bavaria and Baden-Württemberg were tested for hemagglutination - inhibiting antibodies against reoviruses types 1, 2 and 3.

Reovirus antibodies were found in 274 (63,5 %) of the 432 calves and adult cattle.

Of these, 226 animals (52,3 %) had antibodies against serotype 1, 99 (22,9 %), against serotype 2 and 79 (18,2 %) against serotype 3.

172 (39,8 %) had antibodies against only one serotype, 74 (17,2 %) against two serotypes and 28 (6,5 %) animals were positive against all three serotypes.

Different results in animals of different ages indicate, that Reovirus type 1 infections occur mainly in calves, whereas type 2 and 3 infections were found mostly in older animals.

## 6. LITERATURVERZEICHNIS


1.) Abinanti, F.R., 1963 : Respiratory disease viruses of cattle and observations on reovirus infections of cattle. Am. Rev. resp. Dis., 88:290

2.) Baskerville, A., J.B. McFerran und T. Connor, 1971 : The pathology of experimental infection of pigs with type 1 reovirus of porcine origin. Res.vet.Sci.,12:172

3.) Bell, T.M.,A.Massie, M.G.R.Ross,D.I.H.Simpson und E.Griffin, 1966 : Further isolation of reovirus type 3 from cases of Burkitt's limphoma. Br. med. J., 1:1514

4.) Bils,R.F. und C.E.Hall, 1962 : Electron microscopy of wound-tumor virus. Virology, 17:123

5.) Cook,I., 1963 : Reovirus type 3 infection in laboratory mice. Austr.J.exp.Biol.med.Sci.,41:651

6.) Dawson,P.S.,P.H.Lamont und J.H.Darbyshire,1966 : zit. nach Omar, A.R. Vet.Bull., 36:1

7.) Eggers,H.J.,P.J.Gomatos und I.Tamm, 1962 : Agglutination of bovine erythrocytes: A general characteristic of reovirus type 3. Proc.Soc.exp.Biol.,110:879

8.) Fairchild,G.A.F. und D.Cohen, 1967 : Serologic study of reovirus infection in dogs. Amer.J.vet.Res., 28:1487

9.) Fujizaki,Y.,H.Kawamura und D.P.Anderson, 1969 : Reoviruses isolated from Turkeys with Bluecomb. Am.J.vet.Res., 30:1035

10.) Gomatos,P.J. und I.Tamm, 1963 a : The secondary structure of reovirus RNA. Proc.nat.Acad.Sci., 49:707

11.) Gomatos,P.J. und I.Tamm, 1963 b : Base composition of the RNA of a reovirusvariant. Science, 140:997

12.) Harkness,J.W.,M.S.Chapman und J.H.Darbyshire, 1971 : A survey of antibodies to some respiratory viruses in the sera of pigs. Vet.Rec., 88:441

13.) Hartley,J.W.,P.Rowe und R.J.Huebner, 1961 : Recovery of reovirus from wild and laboratory mice. Proc.Soc.exp.Biol.,108:390

14.) Hartley,J.W.,P.Rowe und J.B.Austin, 1962 : Subtype differentiation of reovirus type 2 strains by hemagglutination-inhibition with mouse antisera. Virology, 16:94

15.) Hull,R.N. und J.R.Minner, 1957 : New viral agents recovered from tissue cultures of monkey kidney cells.II.Problems of isolation and identification. Ann.N.Y.Acad.Sci., 67:413

16.) Hull,R.N.,J.R.Minner und C.C.Mascoli, 1958 : New viral agents recovered from tissue cultures of monkey kidney cells.III.Recovery of additional agents both from cultures of monkey tissues and directly from tissues and excreta. Amer.J.Hyg., 68:31

17.) Hull,R.N.,J.R.Minner und J.W.Smith, 1956 : New viral agents recovered from tissue cultures of monkey kidney cells.I.Origin and properties of cytopathogenic agents S.V.1,S.V.2,S.V.4,S.V.5,S.V.6, S.V.11,S.V.12 and S.V.15. Am.J.Hyg., 63:204

18.) Kasel,J.A.,L.Rosen und H.E.Evans, 1963 : Infection of human volonteers with a reovirus of bovine origin. Proc.Soc.exp.Biol.Med.,112:979

19.) Kasza,L., 1970 : Isolation and charakterization of a reovirus from pigs. Vet.Rec., 87:681

20.) Kawamura,H., F.Shimizu, M.Maeda und H.Tsubahara, 1965: : Avian reovirus:Its properties and serological classification. Nat.Inst.Anim.Hlth.quart.5:115

21.) Kawamura,H. und H.Tsubahara, 1966 : Common antigenicity of avian reovirus. Nat.Inst.Anim.Hlth.quart.,6:187

22.) Lamont,P.H., 1968 : Reoviruses. J.Amer.Vet.Med.Ass.,152:807

23.) Lamont,P.H.,G.H.Darbyshire, P.S.Dawson,A.R.Omar und A.R.Jennings, 1968 : Pathogenesis and pathology of infection in calves with strains of reovirus types 1 and 2. J.Comp.Pathol., 78:23

24.) Langridge,R. und P.J.Gomatos, 1963 : The structure of RNA.Reovirus RNA and transfer RNA have similar three-dimensional structures,which differ from DNA. Science, 141:694

25.) Lerner,A.M., J.D.Cherry und M.Finland, 1963 : Hemagglutination with reoviruses. Virology, 19:58

26.) Lou,T.Y. und H.A.Wenner, 1963 : Natural and experimental infection of dogs with reovirus type 1:Pathogenicity of the strain for other animals. Amer.J.Hyg., 77:293

27.) Mann,J.J.,R.D.Rossen,J.R. Lehrich und J.A.Kasel,1967 : The effect of kaolin on immunoglobulins:An improved technique to remove the nonspecific serum inhibitor of reovirus hemagglutination. J.Immunol., 98:1136

28.) Massie,E.L. und F.D.Shaw, 1966 : Reovirus type 1 in laboratory dogs. Amer.J.vet.Res., 27:783

29.) Mayr,A. und A.Rojahn,1968 : Infektionsfördernde und Infektionshemmende Faktoren bei der Massentierhaltung. Tierärztl. Umschau, 23:555

30.) McFerran,J.B.,R.Nelson, J.N.McCracken und J.G.Ross, 1969 : Virus isolated from sheep. Nature, 221:194

31.) McFerran,J.B. und T.Connor, 1970 : A reovirus isolated from a pig. Res.vet.Sci., 11:388

32.) McFerran,J.B.,A.Baskerville und T.Connor, 1971 : Experimental infection of pigs with a human strain of type 1 reovirus. Res.vet.Sci., 12:174

33.) Miles,J.A.R., F.J.Austin, F.N.Macnamara und T.Magwire 1965 : Isolation of reovirus type 3 from mosquitoes and from bird blood from South Wortland. Proc.Univ.Otago med.Sch.43:27

34.) Moss III,L.H. und M.Gravell 1969 : Ultrastructure and sequential development of infectious pancreatic necrotic virus. J.Virology, 3:52

35.) Parker,L., E.Baker und N.F.Stanley, 1965 : The isolation of reovirus type 3 from mosquitoes and from a sentinel infant mouse. Austr.J.exp.Biol.med.Sci.43:167

36.) Phillip,J.I.H., 1970 : Virus pneumonia in calves. Vet.Rec., 86:280

37.) Rosen,L., 1960 : Serologic grouping of reovirus by hemagglutination-inhibition. Amer.J.Hyg., 71:242

38.) Rosen,L., 1962 : Reovirus in animals other than man. Ann.N.Y.Acad.Sci., 101:461

39.) Rosen,L., 1963 : Respiratory enterovirus and reovirus infection. Arch.ges.Virusforsch.,13:272

40.) Rosen,L., 1964 : Reoviruses in Diagnostic Procedures of Viral and Rickettsial Diseases. (Lennette and Schmidt,eds.) p.259,Am.Public.Hlth.Ass. Inc.N.Y.

41.) Rosen,L., 1968 : Reoviruses in Virology Monographs (1) p.74, Springer-Verlag, Wien

42.) Rosen,L. und F.R.Abinanti, 1960 : Natural and experimental infection of cattle with human types of reovirus. Amer.J.Hyg., 71:250

43.) Rosen,L.,F.R.Abinanti und J.F.Hovis, 1963b : Further observations on the natural infection of cattle with reoviruses. Amer.J.Hyg., 77:38

44.) Rosen,L.,H.E.Evans und A.Spickard, 1963a : Reovirus infection in human volonteers. Amer.J.Hyg., 77:29

45.) Rosen,L.,J.F.Hovis, F.M.Mastrota,J.A.Bell, und R.J.Huebner, 1960a : Observations on a newly recognized virus (Abney) of the reovirus family. Amer.J.Hyg., 71:258

46.) Rosen,L.,J.F.Hovis, F.M.Mastrota,J.A.Bell und R.J.Huebner, 1960b : An outbreak of infection with a type 1 reovirus among children in a institution. Amer.J.Hyg., 71:266

47.) Sabin,A.B., 1959 : Reoviruses:A new group of respiratory and enteric viruses formerly classified as ECHO type 10, is described. Science, 130:1387

48.) Sabin,A.B., 1960 : Role of the ECHO viruses in human diseases, in Viral infections of Infancy and Chilhood (Rose,ed.) p.78,Hoeber-Harper, N.Y.

49.) Schmidt,N.J.,J.Dennis, M.N.Hoffman und E.H. Lannette, 1964 : Inhibitors of echovirus and reovirus hemagglutination.II. Serum and phospholipid inhibitors. J.Immunol., 93:377

50.) Schmidt,N.J.,E.H.Lennette und M.F.Hanahoe, 1966 : Microneutralization test for reovirus.Application to detection and assay of antibodies in sera of laboratory animals. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.), 121:1268

51.) Schmidt,N.J.,C.Tauchnitz und O.Kuhn, 1965 : Untersuchungen über das Vorkommen hämagglutinationshemmender Antikörper gegen die Reovirustypen 1 und 2 in der Bevölkerung. Z.Hyg.Infekt.-Kr., 150:269

52.) Scott,F.W.,D.E.Kahn und J.H.Gillespie, 1970 : Feline viruses:Isolation, characterization and pathogenicity of a feline reovirus. Amer.J.vet.Res., 31:11

53.) Shefki,M.D. und W.P.J.Benge, 1969 : A trivalent vaccine against virus pneumonia in calves. Vet.Rec., 85:582

54.) Simpson,D.I.H.,A.J.Haddow, J.P.Woodall,M.C.Williams und T.M.Bell, 1965 : Attempts to transmit reovirus type 3 by the bite of Aedes (Stegomyia) aegypti Linnaeus. E.Afr.med.J.,42:708

55.) Spradbrow,P.B., 1968 : Antibodies to reoviruses,parainfluenza-3 virus,encephalomyocarditis virus and infectious bovine rhinotracheitis virus in porcine serums. Aust.vet.J., 44:320

56.) Stanley,N.F., 1961 : Relationship of hepatoencephalomyelitis virus and reoviruses. Nature (Lond.), 189:687

57.) Stanley,N.F., 1966 : The etiology and pathogenesis of Burkitt's African lymphoma. Lancet, 1:961

58.) Stanley,N.F., 1967 : "Reoviruses".
Brit.med.Bull., 23:150

59.) Stanley,N.F.,D.C.Dorman und J.Ponsford, 1953 : Studies on the pathogenesis of a hitherto undescribed virus (hepatoencephalomyelitis) producing unusual symptoms in suckling mice.
Aust.J.exp.Biol.med.Sci.,31:147

60.) Stanley,N.F.,D.C.Dorman und J.Ponsford, 1954 : Studies on the hepato-encephalomyelitis virus (HEV).
Aust.J.exp.Biol.med.Sci.,32:543

61.) Stanley,N.F. und P.J.Leak, 1963 : The serologic epidemiology of reovirus infection with special reference to the Rottnest island Quokka (setonix brachyurus).
Amer.J.Hyg., 78:82

62.) Stanley,N.F.,P.J.leak, G.M.Grieve und D.Perret, 1964 : The ecology and epidemiology of reovirus.
Austr.J.exp.Biol.med.Sci.,42:373

63.) Streissle,G., und K.Maramoroch, 1963 : Reovirus and wound-tumor virus: serological cross reactivity.
Science, 140:996

64.) Thompson,H.,N.G.Wright und H.J.C.Cornwell,1970 : Experimental reovirus infection in dogs:A preliminary report.
Res.vet.Sci., 11:302

65.) Trainor,P.D.,S.B.Mohanty und F.M.Hetrick, 1966 : Experimental infection of calves with reovirus type 1.
Amer.J.Epidemiol., 83:217

66.) Vasquez,C. und P.Tournier, 1962 : The morphology of reovirus. Virology, 17:503

67.) Wellemans,G., 1969 : Examen sérologique de quelques troupeaux de bovins atteints de troubles réspiratoires. Annls.Méd.Vét., 113:47

68.) Wizigmann,G. und G.Reinhardt, 1971 : Untersuchungen über Reovirus-Infektionen beim Rind in der Bundesrepublik Deutschland. Zbl.Vet.Med., B., 18:564

69.) Wizigmann,G., 1971 : unveröffentlichte Ergebnisse.

70.) Wunderlich,P., 1972 : Serologische Untersuchungen über das Vorkommen und die Verbreitung von Reovirusinfektionen in Bayerischen Schweinebeständen. Vet.Med.Dissert., München

71.) Nelson,J.B. und G.R. Collins, 1961 : The establishment and maintenance of a specific pathogen-free colony of Swiss mice. Proc. Animal Care Panel.11:65

Herrn Prof. Dr. A. Mayr danke ich herzlich für die freundliche Aufnahme in seinem Institut, die Überlassung des Dissertationsthemas und seine allzeit bereitwilligst gewährte Unterstützung.

Für wertvolle Hinweise und freundliche Hilfe gilt Herrn Dr. G. Wizigmann mein besonderer Dank.

## 7. LEBENSLAUF

Am 9.3.1943 wurde ich, Germán Antonio Reinhardt, als zweiter Sohn der Eheleute Hermann Reinhardt und Wilhelmine Reinhardt, geb. Vater, in Santiago de Chile geboren.

Nach Besuch der Höheren Schule bei den "Padres Alemanes" (S.V.D.) in Los Angeles, Chile (1955-57), wechselte ich in die Militärschule über, wo ich gleichzeitig meinen Wehrdienst ableistete. Dort habe ich 1960 mein Reifezeugnis erhalten.

Von 1962 bis 1966 habe ich an der "Universidad Austral de Chile" in Valdivia studiert. Die Thesis zur Erlangung meines Titels lautete "Contribución al estudio de la leptospirosis en el personal de matadero de la provincia de Valdivia" (Leptospirose bei der Schlachthofarbeiterschaft der Provinz Valdivia). Am 3.1.1968 habe ich die Tierarzt-Diplomprüfung bestanden.

Seit Januar 1968 bin ich am Institut für Mikrobiologie der Universidad Austral in Valdivia als wissenschaftlicher Assistent tätig.

Als Stipendiat des Deutschen Akademischen Austauschdienstes besuche ich seit April 1970 das Institut für Mikrobiologie und Infektionskrankheiten der Tiere der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität, München.